

ダミノジッド試験法（案）

ダミノジッドは、ポジティブリスト制導入時に、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定められた。

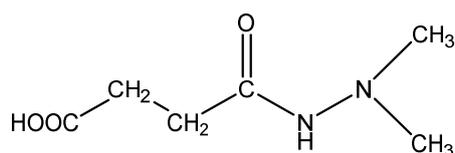
従来、不検出基準を含む農薬等については、試験法の検出限界により規制が行われることから、規格基準の改正と同時に試験法を告示し、併せてその検出限界が別途通知されているところである。当該成分の試験法については、厚生省告示第370号において示されているが、この試験法は畜水産物について、その試験法の性能が評価されたものではなかった。

そのため、開発が進められてきたところ、今般、その開発が終了したため、同試験法について審議するものである。

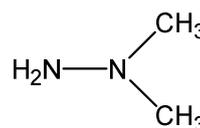
1. 概要

(1) 分析対象の化合物

ダミノジッド及び1,1-ジメチルヒドラジン



ダミノジッド



1,1-ジメチルヒドラジン

(2) 分析対象食品

農産物

畜水産物

(3) 試験法の概要

ダミノジッド及び1,1-ジメチルヒドラジンを試料から農産物は水で、畜水産物は*n*-ヘキサン存在下水で抽出した後、ダミノジッドを塩基性条件下で加水分解して1,1-ジメチルヒドラジンに変換した後、水蒸気蒸留により1,1-ジメチルヒドラジンを捕集する。次いで*o*-ニトロベンズアルデヒドで誘導体化して*o*-ニトロジメチルヒドラジンに変換した後、*n*-ヘキサンに転溶する。アルミナ（塩基性）ミニカラムで精製した後、高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）又はアルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）で定量し、ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）で確認する方法である。なお、1,1-ジメチルヒドラジンの含量に換算係数2.665を乗じてダミノジッドの含量に変換して分析値とする。ダミノジッドの分析値には、ダミノジッド及び1,1-ジメチルヒドラジンが含まれる。

(4) 検出限界 0.1 mg/kg （ダミノジッド換算）

2. 真度及び精度の評価

以下の食品を対象として添加回収試験（添加濃度 0.1 ppm）を行い、真度及び併行精度の確認を実施した。

農産物：玄米、大豆、コーヒ豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ及びホップ

畜水産物：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵、さけ、うなぎ、しじみ、えび及びはちみつ

表 検討結果の真度及び併行精度（試行数5で実施）

	分析対象食品	検討結果*	目標値
真度	農産物	83～110%	70～120%
	畜水産物	71～93%	
併行精度	農産物	3～13%	15%未満
	畜水産物	4～13%	

* GC-NPD の結果

3. 答申案

別紙のとおり。

（参考）これまでの経緯

平成17年11月29日 残留基準告示
 平成27年 3月12日
 ～平成28年9月16日 残留農薬等公示分析法検討会で検討
 平成28年12月20日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
 平成28年12月20日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに告示試験法改定に係る食品健康影響評価について照会
 平成28年12月20日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに回答について通知
 平成28年12月27日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井 里枝	埼玉県衛生研究所化学検査室長
○大野 泰雄	公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室教授
佐々木 一昭	東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐藤 清	一般財団法人残留農薬研究所技術顧問
佐野 元彦	東京海洋大学海洋生物資源学部門教授
永山 敏廣	明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授
根本 了	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長
宮井 俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
鱒淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授

(○：部会長)

答申（案）

ダミノジッド試験法

ダミノジッド及び1,1-ジメチルヒドラジンを分析対象とする。

1. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ、ガスクロマトグラフ・質量分析計並びに水蒸気蒸留装置を用いる。水蒸気蒸留装置はガラス製で、その概略は、次の図による。

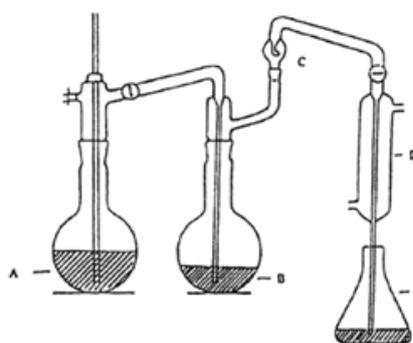
A：500 mL～1,000ml の丸底フラスコ（水蒸気発生用）

B：500 mL～1,000ml の丸底フラスコ（蒸留用）

C：蒸留トラップ

D：冷却管

E：100ml の三角フラスコ



2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

アセトン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。

アルミナ(塩基性) ミニカラム (1,710mg) 内径8～9mmのポリエチレン製のカラム管に、アルミナ(塩基性) 1,710mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

液相分離ろ紙 化学分析用ろ紙をシリコン処理したものを用いる。

消泡用シリコン シリコンを消泡用に製造したものを用いる。

o-ニトロベンズアルデヒド o-ニトロベンズアルデヒド(特級)

1 w/v% o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液 o-ニトロベンズアルデヒド 100mgにメタノール 10mlを加えて溶かす。用時調製する。

n-ヘキサン 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。

水 蒸留水、精製水あるいは純水などの化学分析に適したものを用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、n-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

メタノール 当該農薬等の成分である物質の分析の妨害となる物質を含まないものを用いる。

リン酸緩衝液(pH5) リン酸一カリウム 13.15 g及びリン酸二カリウム 0.59 gに水を加えて溶かし、100mlとする。

3. 標準品

1, 1-ジメチルヒドラジン標準品 本品は1, 1-ジメチルヒドラジン 97%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 農産物の場合

穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を425 μ mの標準網ふるいを通るように粉碎して均一化した後、その10.0 gを量り採る。ただし、ふるいを通すことが困難な食品の場合は、約2 mm角に細切して均一化した後、その10.0 gを量り採る。

果実及び野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体5.00 gを量り採る。

茶及びホップの場合は、検体を425 μ mの標準網ふるいを通るように粉碎して均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これに水80mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水40mlを加え、細砕した後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に200mlとする。この溶液から穀類、豆類、種実類、果実及び野菜の場合は正確に20ml（茶及びホップの場合は正確に40ml）を丸底フラスコ（蒸留用）に分取し、水80mlを加える。

② 畜水産物（乳、卵及びはちみつ以外）の場合

検体を細切均一化した後、その10.0 g（脂肪は5.00 g）を量り採り、水80mlとn-ヘキサン40mlを加え、細砕した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、水層とn-ヘキサン層をそれぞれ採る。ろ紙上の残留物に先のn-ヘキサン層を加え、さらに水40mlを加えて細砕した後、上記と同様にろ過する。得られた水層を合わせ、水を加えて正確に200mlとする。この溶液から正確に20ml（脂肪は正確に40ml）を丸底フラスコ（蒸留用）に分取し、水80mlを加える。

③ 乳、卵及びはちみつの場合

検体を均一化した後、その10.0 gを直接丸底フラスコ（蒸留用）に量り採り、水80mlを加える。

b 蒸留

a 抽出法の丸底フラスコ（蒸留用）に水酸化ナトリウム60 gを水冷しながら、少量ずつ加えて溶かす。これに消泡用シリコン1～2滴及び沸騰石を加えた後、直ちに蒸留装置に取り付ける。別に、リン酸緩衝液（pH5）5ml及びフェノールフタレイン試液1滴を入れた100mlの三角フラスコを水蒸気蒸留装置に取り付け、丸底フラスコ（水蒸気発生用）を加熱しておく。留液が45mlになるまで水蒸気蒸留し、留液が着色しないことを確認する。蒸留が約15分間で終了するように加熱強度を調節する。

c 誘導体化

b 蒸留で得られた留液に1 w/v% o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1mlを加えて振り混ぜた後、40℃で16時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とう後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、上記と同様に操作して、得られたn-ヘキサン層を合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を先のn-ヘキサン層に合わせ、40℃以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトン及びn-ヘキサン（1：19）混液5mlを加えて溶かす。

d 精製

アルミナ（塩基性）ミニカラム（1,710mg）にアセトン及びn-ヘキサン（1：19）混液10mlを注入し、流出液は捨てる。このカラムにc誘導体化で得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及びn-ヘキサン（1：19）混液10mlを注入し、全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶かし、穀類、豆類、種実類、茶、ホップ及び畜水産物（乳、卵及びはちみつは除く）の場合は正確に1ml、果実及び野菜の場合は正確に2ml、乳、卵及びはちみつの場合は正確に10mlとしたものを試験溶液とする。

5. 操作法

a 検量線の作成

1, 1-ジメチルヒドラジン標準品の500mg/l溶液を調製する。この1mlを採り、リン酸緩衝液（pH5）5ml及び水40mlを加えたものに1w/v% o-ニトロベンズアルデヒド・メタノール溶液1mlを加えて振り混ぜた後、40℃で16時間放置する。これにn-ヘキサン50mlを加えて5分間振とう後、静置し、n-ヘキサン層を採り、液相分離ろ紙を用いてろ過する。水層にn-ヘキサン50mlを加え、上記と同様に操作して、得られたn-ヘキサン層を合わせる。n-ヘキサン10mlを用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を先のn-ヘキサン層に合わせ、40℃以下でn-ヘキサンを除去する。この残留物を溶解してアセトン溶液を数点調製し、それぞれガスクロマトグラフに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.1mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.1mg/l（ダミノジッド換算）である。

b 定量試験

試験溶液をガスクロマトグラフに注入し、aの検量線で1, 1-ジメチルヒドラジンの含量を求め、次式によりダミノジッドの含量を求める。

$$\text{ダミノジッドの含量 (ppm)} = 1, 1\text{-ジメチルヒドラジンの含量 (ppm)} \times 2.665$$

c 確認試験

ガスクロマトグラフ・質量分析計により確認する。

d 測定条件

（例）

① ガスクロマトグラフ

検出器：アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン 内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25μm

カラム温度：60℃で2分間保持し、その後毎分10℃で昇温する。280℃に到達後8分間保持する。

試験溶液注入口温度 250℃

検出器 280℃で操作する。

キャリアーガス：ヘリウム

注入量：2μl

保持時間の目安：15分

② ガスクロマトグラフ・質量分析計

カラム：トリフルオロプロピルメチルポリシロキサン 内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25μm

カラム温度：80℃で2分間保持し、その後毎分15℃で昇温する。200℃に到達後、毎分30℃で

昇温し、250°Cに到達後3分間保持する。

試験溶液注入口温度 250°C

キャリアガス：ヘリウム

イオン化モード（イオン化エネルギー）：EI（70eV）

主なイオン（ m/z ）：193, 77

注入量：2 μ l

保持時間の目安：9分